

發明專利說明書 200413286

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號： 92131450

※申請日期： 92.11.11

※IPC 分類： C07C 237/06

壹、發明名稱：(中文/英文)

新穎機能性肽核酸及其製法

貳、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

池田壽文

代表人：(中文/英文)

住居所或營業所地址：(中文/英文)

日本千葉縣流山市江戸川台西3丁目31番地之1

江戸川台住宅區 8-307

國籍：(中文/英文)

日本 / Japan

參、發明人：(共 2 人)

發明人 1

姓名：(中文/英文)

池田壽文

住居所地址：(中文/英文)

日本千葉縣流山市江戸川台西3丁目31番地之1

江戸川台住宅區 8-307

國籍：(中文/英文)

日本 / Japan

發明人 2

姓 名：(中文/英文)

北川文彦

住居所地址：(中文/英文)

日本千葉縣野田市山崎 2185 番地之 1

杉經營管理學院 107 號室

國 籍：(中文/英文)

日本 / Japan

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項 ☐ 第一款但書或 ☐ 第二款但書規定之期間，其日期為： 年 月 日。

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☒ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1. 日本；2002.11.19；2002-335737

2.

3.

4.

5.

☐ 主張國內優先權（專利法第二十五條之一）：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於機能性肽核酸單體之新穎製造方法、以該製造方法所製造之機能性肽核酸單寡聚物及其中間體。更詳細的說，前述製造方法之特徵為：將前驅物之 PNA 單體單元導入 PNA 寡聚物後，將 1 種或 2 種以上機能性分子以後合成方式導入，及/或在已導入機能性分子之前驅物 PNA 單體單元導入 PNA 寡聚物後，再將 1 種或 2 種以上機能性分子以後合成方式導入。

【先前技術】

核酸為主掌生物遺傳資訊之 DNA 及 RNA。相對於此，肽核酸(PNA)為將核酸之糖磷酸骨架轉換為 N-(2-胺基乙基)甘胺酸骨架之修飾核酸(圖 1)。在中性條件時 DNA/RNA 之糖磷酸骨架其帶負電荷之互補鏈間會產生靜電排斥，但 PNA 的骨架結構因原本不帶電故並不會產生靜電排斥。因此，PNA 與習知的核酸比較，具有高度形成雙鏈的能力，且具有高度辨識鹼基序列的能力。再者，因 PNA 對活體內核酸酶、蛋白酶非常安定而不會被分解，故其作為反義(antisense)分子以應用於基因治療正被研究中。

利用將習知以 DNA 為媒介的技術加以 PNA 化，將可彌補至目前為止尚無法克服之 DNA 的缺點。例如，應用於高速且大量進行遺傳資訊系統性解析之「DNA 微陣列技術」，及應用於最近開發出之「分子標記」中作為探針，以發螢光的方式特異性辨識鹼基序列。該等皆以欠缺酵素耐受

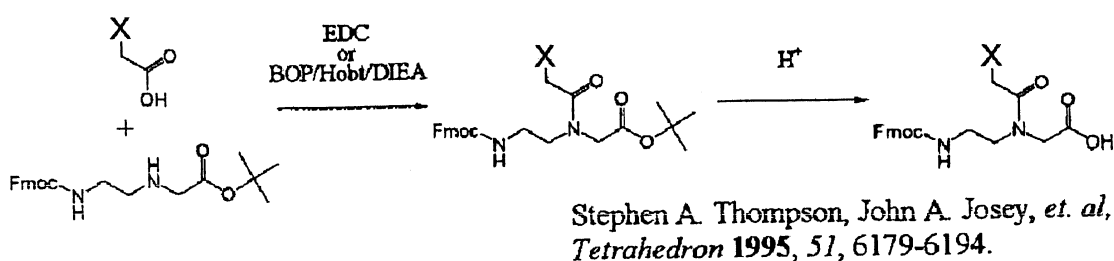
性之 DNA 為媒介，使用該等技術時需進行嚴密的取樣 (sampling)。滿足該要求為使前述技術高度化的瓶頸。

因 PNA 對酵素具完全耐受性，藉由將 DNA 微陣列技術及分子標記中之 DNA 代換為 PNA，以克服前述技術之缺點並進一步發揮其長處是可期待的。

除 DNA 微陣列技術及分子標記以外，期待藉由 PNA 化而發展之領域還有很多，在該等領域需要將 PNA 有效的機能化，亦即必需設計新穎之 PNA 單體以將機能性分子有效導入 PNA 單體。

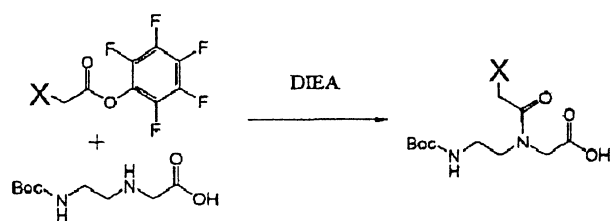
PNA 寡聚體之合成方法係使用通常之固相肽合成法，若將 PNA 單體單元以 PNA 骨架構造分類，係包括 Fmoc 型 PNA 單體單元及 tBoc 型 PNA 單體單元 2 種(圖 2)。

Fmoc 型 PNA 單體單元之合成方法已確立，且其寡聚物之合成可利用一般 DNA 自動合成機進行，以下述途徑，可進行小規模的合成。



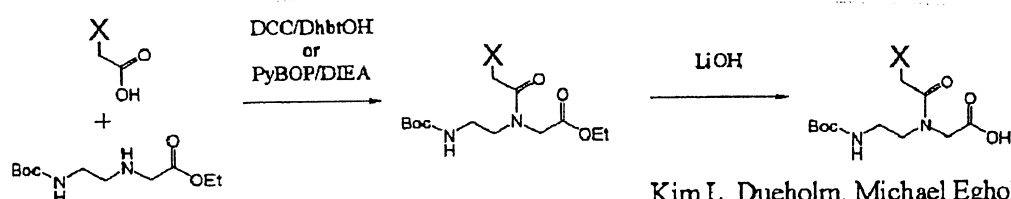
(X 為鳥嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或腺嘌呤)

起初 PNA 係採用如下述 tBoc 型 PNA 單體單元，



Michael Egholm, Ole Buchardt, Peter E. Nielsen, and Rolf H. Berg
J. Am. Chem. Soc. **1992**, *114*, 1895-1897.

後來，確立了更有效的合成方法。



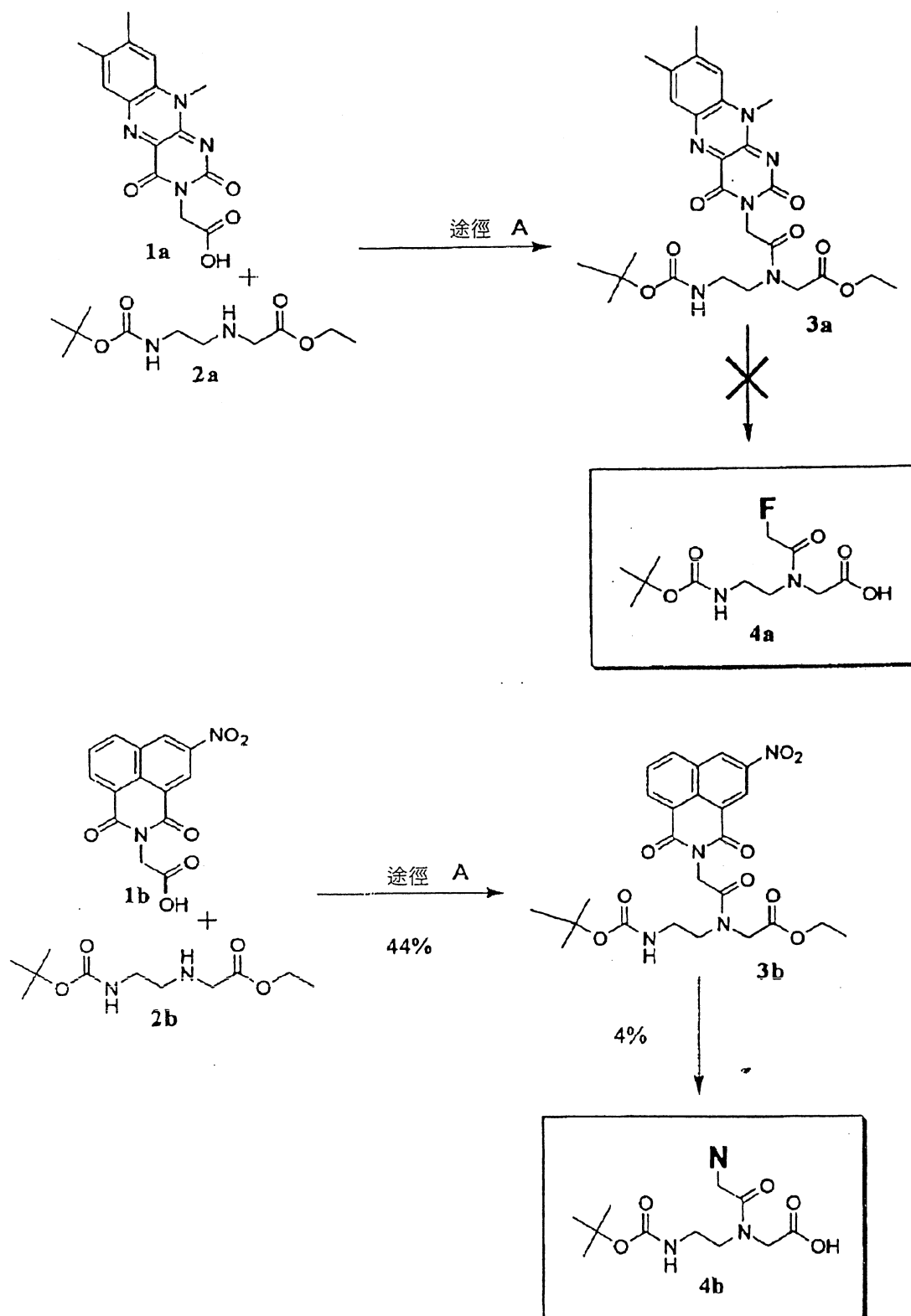
Kim L. Dueholm, Michael Egholm, et. al,
J. Org. Chem. **1994**, *59*, 5767-5773.

但，後來開發了如前述處理較容易之 Fmoc 型，故 tBoc 型使用的頻率正減少中。

導入鳥嘌呤、胸腺嘧啶、胞嘧啶或腺嘌呤 4 種核酸鹼基以外之機能性分子時，例如，導入光放出性分子時，因導入之機能性分子在鹼性條件下大多不安定，故不需使用鹼性條件之 tBoc 型 PNA 骨架構造的有用性高。本發明人等已將關於「叔丁氧基羰基胺基乙基胺及胺基酸衍生物之製造方法」提出專利申請，案號為日本特願 2000-268638。

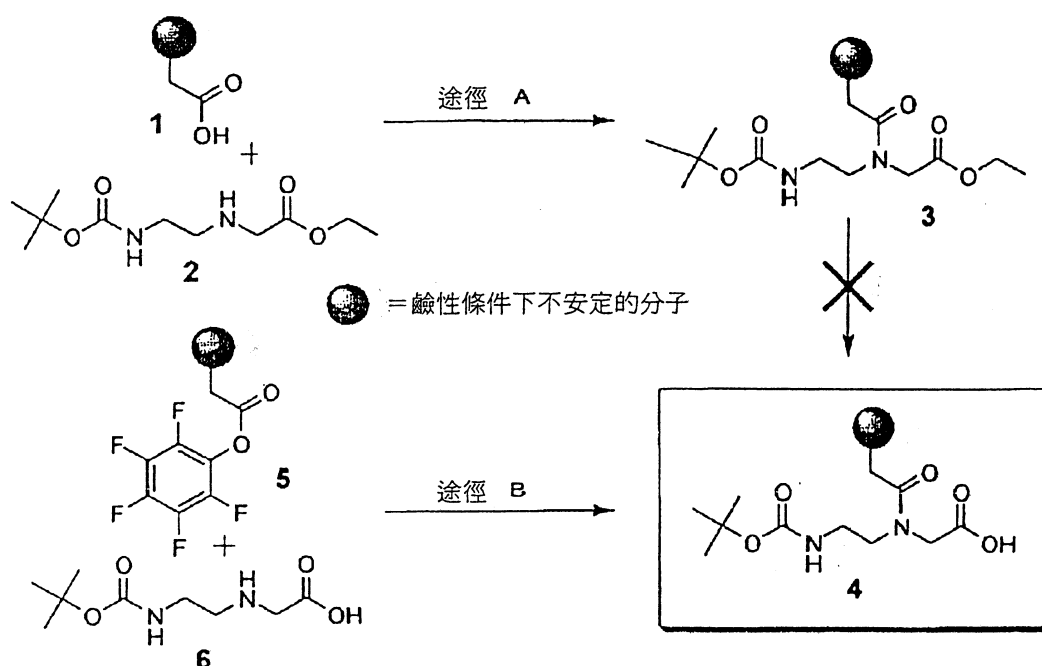
此外，已知曾有 5 例光放出性寡聚物 PNA 之單體單元合成例。該等全部使用上述途徑，但不是未記載產率，就是僅有極低產率（參照例如專利文獻 1~2 及非專利文獻

1~3)。又，使用之化合物構造在鹼性條件下較為安定為其特徵，故若帶有鹼性條件不安定之發色團時，推測以與前述習知法類似的方法、即下述途徑 A 並不能有效合成。



又，因一般光放出性分子等機能性分子多半昂貴，故要求更合理的機能性 PNA 合成方法，即①機能性 PNA 單體單元設計時能有效導入機能性分子的 PNA 骨架構造、②考量成本效益的合成途徑、及③為適用於基因診斷藥之應用而將機能性分子以超高速導入之方法。

有鑑於上述課題，本發明者等發現機能性 PNA 單體之新穎製造方法，如下述途徑 B 所示，



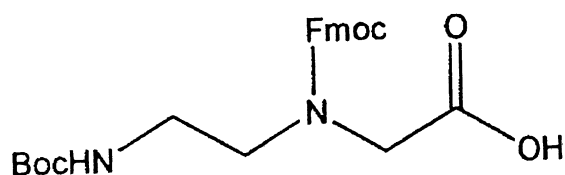
在 PNA 骨架構造上使用叔丁氧基羰基胺基乙基胺衍生物 6 與含五氟代苯基 1 之活性酯體 5 縮合，可以大致定量合成出機能性 PNA 單體 4。

又，本發明人等發現合成機能性 PNA 單體之別種方法，係於 PNA 骨架構造上使用叔氧基羰基- ω -胺基酸衍生物取代上述叔丁氧基羰基胺基乙基胺衍生物 6 之方法(途徑 C)。該等方法亦已申請專利中。

關於最後合成機能性 PNA 的方法，利用上述途徑 B 或

途徑 C 任一方法以合成機能性 PNA 單體後，再加以聚合之方法正逐步工業化中。即，以目前之機能性 PNA 合成法，已可大量工業化合成機能性 PNA 以作為 PNA 探針。

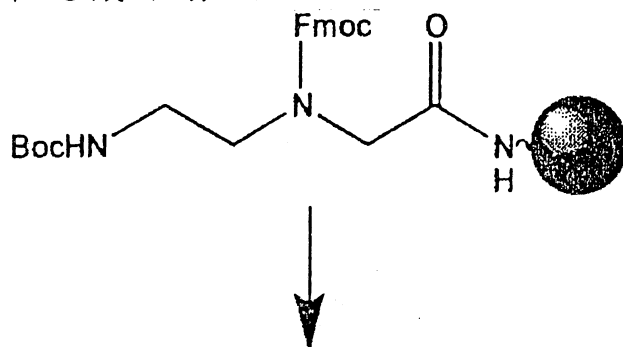
另外，以提高成本效益及以超高速導入機能性分子為目的之機能性 PNA 分子合成方法也被改良。例如，關於與採用前述機能性 PNA 單體單元之方法不同的方式，已有報告揭示出，利用下述前驅物 PNA 單體單元，以後合成方式將機能性分子導入 PNA 寡聚物之方法(參照非專利文獻 4)。

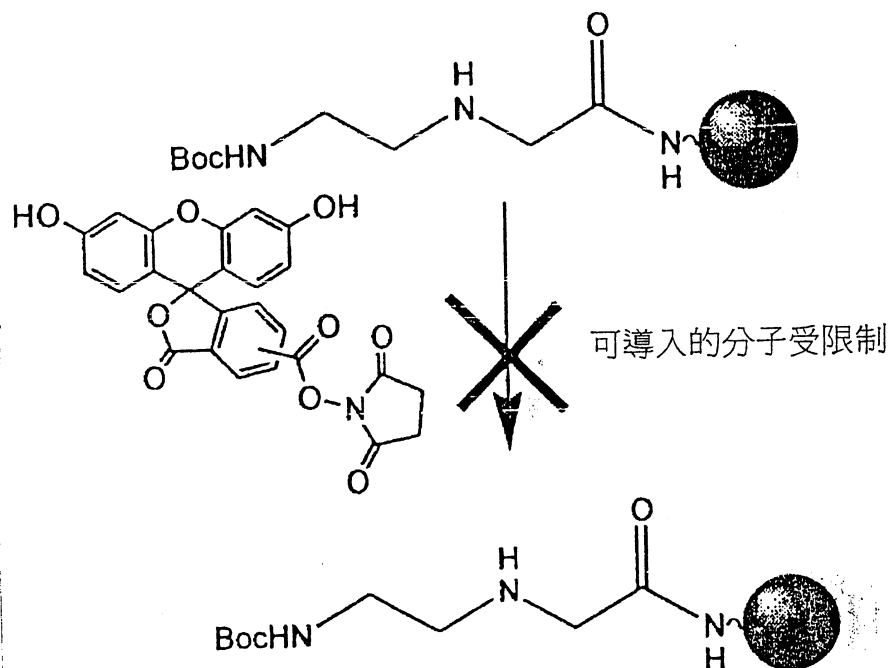


該方法係將前述前驅物 PNA 單體單元導入 PNA 寡聚物後，再導入機能性分子以合成機能性 PNA。

但是該方法存在能導入之機能性分子種類受限的缺點。

例如，無法導入如下圖所示之市售光放出性分子之琥珀醯亞胺酯，且為導入必需先導入 Fmoc-Gly 等連結子(linker)，結果造成不易使用上述化合物。





又，關於導入細胞時之螢光探針，目前係利用 DNA 寡聚物、RNA 寡聚物、PNA 寡聚物，為將該等導入細胞必需使其通過細胞膜。但是，因細胞膜在膜表面帶有負電，要導入原本即帶負電之 DNA /RNA 寡聚物非常困難。

此外，PNA 寡聚物雖電荷為中性，但仍難穿過膜。故，目前欲將 PNA 寡聚物導入細胞內時，必須將膜表面進行前處理使導入變容易，或使用轉染藥劑來導入。

但，施以此類處理導入 PNA 寡聚物時，雖可發揮探針的機能，但不保證絕對可正確表現原本在活體內的行為。且，其係在單一細胞的情況，對在多細胞(個體)之利用尚不可行。

由此現狀及觀點，開發具有膜透過性機能之螢光 PNA 探針被認為是有用的。

而，具有膜透過性機能之螢光 PNA 探針已經存在。例如有：①將具有膜透過性機能之寡肽鍵結於 PNA 者、②將具有膜透過性機能之磷脂質鍵結於 PNA 者。但推測該等在透過膜後，PNA 以外的部分會被細胞中之蛋白酶等酵素分

解，而滯留在細胞內。此情形意味著未能捕捉目標物之多餘 PNA 探針會失去膜透過性機能，之後洗淨過程中不易送到細胞外，因而無法正確表現原本細胞具有之基因表現系。

在上述背景下，關於可將 1 個或 2 個以上之機能性分子以超高速導入之機能性 PNA 寡聚物合成方法及其所使用之化合物已申請專利中(日本特願 2002-121667)。

該機能性 PNA 寡聚物製造方法之特徵為：將具有胸腺嘧啶或被保護基保護之腺嘌呤、鳥嘌呤或胞嘧啶的 PNA 單體單元與 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 反應而合成 PNA 寡聚物後，將具有游離羧酸之機能性分子以後合成方式導入該 PNA 寡聚物，再進行前述保護基之脫保護以得到目的物。

但，上述習知使用 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 之製造方法，在機能性分子對 PNA 寡聚物之鍵結弱時，進行保護基脫保護時會連機能性分子也脫離，故產率不夠。

故，特別對可更有效導入對 PNA 寡聚物之鍵結弱的機能性分子的需求仍然很大。

[專利文獻 1]

Peter E. Nielsen 等人，國際公開第 98/5295 A1 號文件。

[專利文獻 2]

Hans-georg Batz 等人，國際公開第 98/37232 A2 號公報。

[非專利文獻 1]

T. A. Tran 等人，J. Pept. Res., 1999, vol 53., p. 134-145。

[非專利文獻 2]

Jesper Lohse 等人，Bioconjugate Chem., 1997., vol 8., p. 503-509。

[非專利文獻 3]

Bruce Armitage 等人，Nucleic Acid Res., 1998., vol. 26., p. 715-720。

[非專利文獻 4]

Oliver Seitz., Tetrahedron Letters., 1999., vol. 40., p. 4161-4164。

【發明內容】

本發明之目的為提供一種成本效益良好且能以超高速導入各種機能性分子之機能性 PNA 之新穎合成方法、該方法所使用之化合物、及新穎機能性 PNA。

本發明者對上述課題努深入研究結果發現，藉由使用新的前驅物 PNA 單體單元，出乎意外的可克服習知法的前述問題，且可合成更廣泛的機能性 PNA，而完成本發明。

即，本發明之機能性 PNA 寡聚物之製造方法，包括以下製程：在具有胸腺嘧啶或被保護基保護之腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、或 Cbz 基的 PNA 寡聚物中，將前述保護基或 Cbz 基，在 PNA 寡聚物由載體樹脂切下後，以機能性分子取代再進行前述保護基之脫保護，而使 PNA 寡聚物具有機能性分子。

再者，本發明之前述方法，包括使 Fmoc- ω -胺基酸-BocPNA-OH 與 Cbz- ω -胺基酸-BocPNA-OH 反應後，將 Fmoc 基以機能性分子取代，以得到具機能性分子之 PNA 寡聚物的製程。

又，本發明之前述方法，包括利用將 Q- ω -胺基酸-BocPNA-OH (Q 表示機能性分子) 導入 PNA 寡聚物，以得到具機能性分子之 PNA 寡聚物的製程。

再者，本發明之前述方法，其中 Cbz- ω -胺基酸-BocPNA-OH，係利用 Cbz- ω -胺基酸-五氟代苯基酯與 BocPNA-OH 的反應來製造。

再者，本發明之前述方法，其中 Cbz- ω -胺基酸-五氟代苯基酯，係利用 Cbz- ω -胺基酸與五氟代苯酚的反應來製造。

再者，本發明之前述方法，其中機能性分子係擇自光放出性分子、光消失性分子、膜透過性機能分子、臟器選擇性機能分子、殺菌性機能性分子、分子辨識性機能性分子、光交聯機能性分子、光增感機能性分子、DNA 鍵結性分子及 DNA 切斷機能性分子之 1 種或 2 種以上。

又，本發明之前述方法，其中機能性分子包括光放出性分子及光消失性分子，光放出性分子為 FITC、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明 (Rhodamine)、TAMRA、ROX、芘及香豆素，光消失性分子為 Dabcyl、HABA、NDI 或偶氮。

又，本發明之前述方法，其中機能性分子包括光放出性分子及膜透過性機能性分子，其中光放出性分子為 FITC

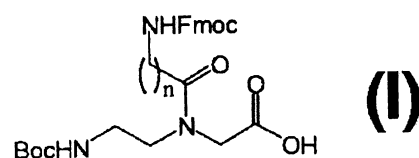
、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明、TAMRA、ROX、芘及香豆素，而膜透過性機能性分子為水溶性胺基酸。

又，本發明之前述方法，其中 PNA 寡聚物之合成包括以 tBoc 法用固相載體將 PNA 鏈縮合與延長。

又，本發明之前述方法，其中 Cbz 基以機能性分子取代，係利用與縮合劑 HATU、HBTU、DCC 或機能性分子之五氟代苯基酯衍生物或 N-羥基琥珀醯亞胺酯衍生物之縮合來進行。

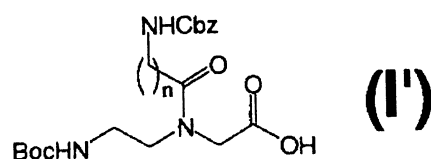
又，本發明之前述方法，其中 Fmoc 基以機能性分子取代之反應，係與將 Fmoc 基以哌啶處理進行選擇性脫保護而得之 1 級胺基間之脫水縮合來進行。

又，本發明之前述方法，其中 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 係以下述通式(1)



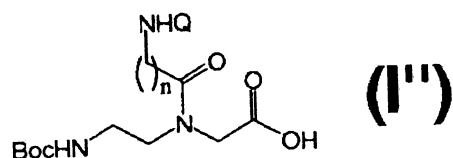
(式中，n 表示 1~15 之整數)表示的化合物。

又，本發明係關於前述方法，其中 Cbz- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 係以下述通式(1')



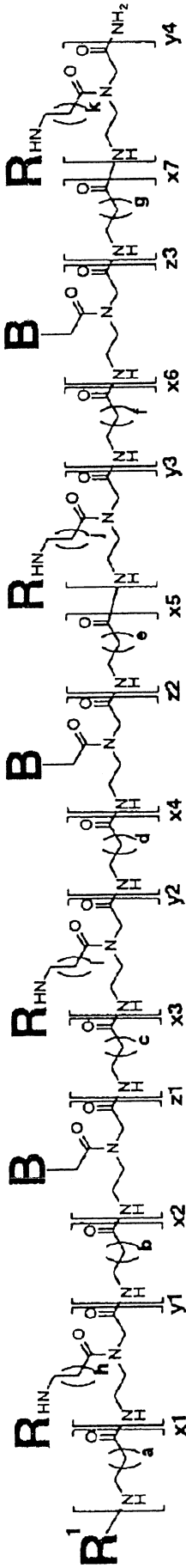
(式中，n 表示 1~15 之整數)表示的化合物。

又，本發明係關於前述方法，其中 Q- ω -胺基酸-BocPNA-OH 係以下述通式(I'')



(式中，Q 表示機能性分子，n 表示 1~15 之整數)表示的化合物。

又，本發明係關於下述式(II)所示之化合物，



(I I)

(式中，B 彼此獨立，為相同或相異，代表腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶；R 彼此獨立，為相同或相異，代表 Fmoc 基、機能性羧酸衍生物或氫原子， R^1 為氫原子、羥基或機能性羧酸衍生物， $a\sim k$ 為 0~10 之整數， $X_1\sim X_7$ 、 $Y_1\sim Y_4$ 及 $Z_1\sim Z_3$ 皆為 0 以上之整數， $X_1+X_2+X_3+X_4+X_5+X_6+X_7>0$ ， $Y_1+Y_2+Y_3+Y_4>0$ ， $Z_1+Z_2+Z_3>0$ ， $X_6+Z_3+X_7+Y_4\neq 0$ 且 R^1 為羥基時，鍵結於 R^1 之 -NH 為 -CO-。)

再者，本發明之前述化合物，其中機能性分子係擇自光放出性分子、光消失性分子、膜透過性機能分子、臟器選擇性機能分子、殺菌性機能性分子、分子辨識性機能性分子、光交聯機能性分子、光增感機能性分子、DNA 鍵結性分子及 DNA 切斷機能性分子之 1 種或 2 種以上。

又，本發明之前述化合物，其中機能性分子包括光放出性分子及光消失性分子，光放出性分子為 FITC、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明、TAMRA、ROX、芘及香豆素，光消失性分子為 Dabcyl、HABA、NDI 或偶氮。

又，本發明之前述化合物，其中 R^1 為機能性羧酸衍生物。

又，本發明成功合成大致定量具有機能性分子之機能性 PNA 寡聚物，係將在 PNA 骨架構造上導入 Cbz- ω -胺基酸而成之前驅物 PNA 單體單元、即 Cbz- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 導入 PNA 寡聚物後，利用後合成方式導入機能性分子。

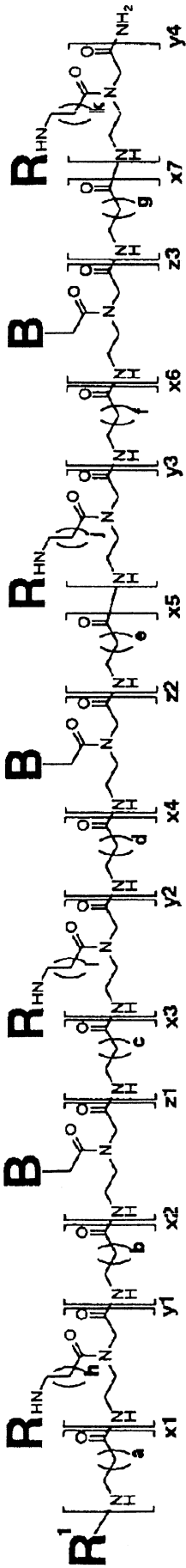
本發明之製造方法中，至少 1 個機能性分子係藉由將 PNA 寡聚物上之 Cbz 基(N-苄氧基羰基)以該機能性分子取

代，以在 PNA 寡聚物從樹脂切離後進行導入。又，機能性分子之導入亦可藉由：將 PNA 骨架構造上來自其他前驅物 PNA 單體單元的 Fmoc 基以其他機能性分子取代之製程來導入，或將 PNA 骨架構造之一部分以具有機能性分子之 PNA 單體構建，再利用預合成方式導入製程來導入。

利用上述特徵，本發明之製造方法可使用市售的琥珀醯亞胺酯等作為導入之機能性分子，且只要是具有羧酸的化合物，則可定量導入無虞。且，將具 Cbz 基 PNA 寡聚物從載體樹脂切下之後，因可利用 Cbz 基之取代以導入機能性分子，故本發明之製造方法可利用前述切離條件導入不具耐受性之機能性分子。因此，本發明製造方法可在高產率下得到具 1 個或 2 個以上機能性分子之機能性 PNA 寡聚物，在成本效益上極為優良。

又，亦可藉由將前述前驅物 PNA 單體單元導入機能性 PNA 寡聚物後分割樹脂，以在各別的樹脂上導入不同的機能性分子。依本發明之製造方法，可開發極高速的機能性 PNA 寡聚物合成方法。

以本發明方法可有效合成之機能性 PNA 寡聚物的例子有下述通式(II)所表示之化合物，



(I I)

(式中，B 彼此獨立，為相同或相異，代表腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶，R 彼此獨立，為相同或相異，代表 Fmoc 基、機能性羧酸衍生物或氫原子， R^1 為氫原子、羥基或機能性羧酸衍生物， $a \sim k$ 為 0~10 之整數， $X_1 \sim X_7$ 、 $Y_1 \sim Y_4$ 及 $Z_1 \sim Z_3$ 皆為 0 以上之整數， $X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 > 0$ ， $Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4 > 0$ ， $Z_1 + Z_2 + Z_3 > 0$ ， $X_6 + Z_3 + X_7 + Y_4 \neq 0$ 且 R^1 為羥基時，鍵結於 R^1 之 $-NH$ 為 $-CO-$ 。)，其中 $X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 = 0$ ， R^1 為氫原子。

通式(II)表示之化合物中至少 1 個 R 為 Fmoc 基之化合物，可藉由將前述 Fmoc 基以機能性分子取代而將至少 1 個機能性分子導入，成為機能性 PNA 寡聚物。故，前述至少 1 個 R 為 Fmoc 基之化合物為機能性 PNA 寡聚物之前驅物化合物。

依本發明，可將相同或不同之各種機能性分子導入到前述通式(II)所示化合物之任意複數位置。即，利用前述前驅物 PNA 單體單元導入 PNA 寡聚物後，再一併進行哌啶處理及機能性分子之後合成導入。此係在提昇 PNA 寡聚物之細胞膜透過性機能之突變基因(antennapedia)的高速設計上不可欠缺之點。又，依本製造方法，也可容易的合成具有光放出性分子及光消失性分子之 PNA 寡聚物分子標記。關於此點，本發明方法極為良好。

依此方式製造的化合物舉例來說，例如有前述通式(II)中， $X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 > 0$ 且 R 為細胞膜透過性分子衍生物且 R^1 為機能性羧酸衍生物者。

探針可大別為螢光標記領域、細胞膜透過性機能領域、分子辨識領域等 3 個，各透過連結部位(以 $X_1 \sim X_7$ 表示之部分)鍵結。

螢光標記化合物可使用市售者，或本發明者等已提出 PCT 申請案之新穎螢光標記化 PNA 單體單元。

分子辨識部位係使用市售之 PNA 單元以合成。該化合物之特徵為：將已提出日本國內專利申請而以通式(I)表示之新穎 PNA 單元及/或通式(I'')表示之新穎 PNA 單元使用於膜透過性機能領域。通式(I)表示之新穎 PNA 單元，係為了藉後合成導入機能性分子所開發之前驅物單元，其特徵為：將複數個單元排在一起後，可如前述般將同一機能性分子一併導入。

依本發明，則不限定於光機能性分子，可將各式各樣機能性分子容易且極有效的導入 PNA 中。

該種機能性分子例如有 FITC 型、蔡醯亞胺型、黃素型、FAM 型、若丹明型、TAMRA 型、ROX 型、芘型及香豆素型光放出型分子，Dabcyl 型、HABA 型、DNI 型及偶氮型等光消失性分子，水溶性胺基酸等膜透過性機能性分子，乳糖等臟器選擇機能性分子，昆蟲抗真菌肽(Thanatin)或天蠶素(cecropin)等殺菌機能性分子，生物素型及巴拉刈(viologen)等分子辨識機能性分子，補骨脂素(psoralens)等光交聯機能性分子，螢光素等光增感機能性分子、司他黴素、赫克司托 33258 及溴化乙錠等 DNA 鍵結性分子，及博來黴素等 DNA 切斷機能性分子之各單體單元。

即，本發明中「機能性」一語包括擇自光放出性、光消失性、膜透過機能性、臟器選擇性機能性、殺菌性機能性、分子辨識性機能性、光交聯機能性、光增感機能性、DNA 鍵結性及 DNA 切斷機能性中 1 種或 2 種以上，並利用進行某特定修飾以賦予化合物所有各種新的機能。

又，本發明化合物特別是在式(II)中，

a) a 為 0~3 之整數， b 為 0~5 之整數， h 、 l 及 k 中至少 1 個為 4 的化合物，

b) $X_1=1$ ，且 $X_2=0$ 或 1， $X_3=X_4=0$ 之化合物，

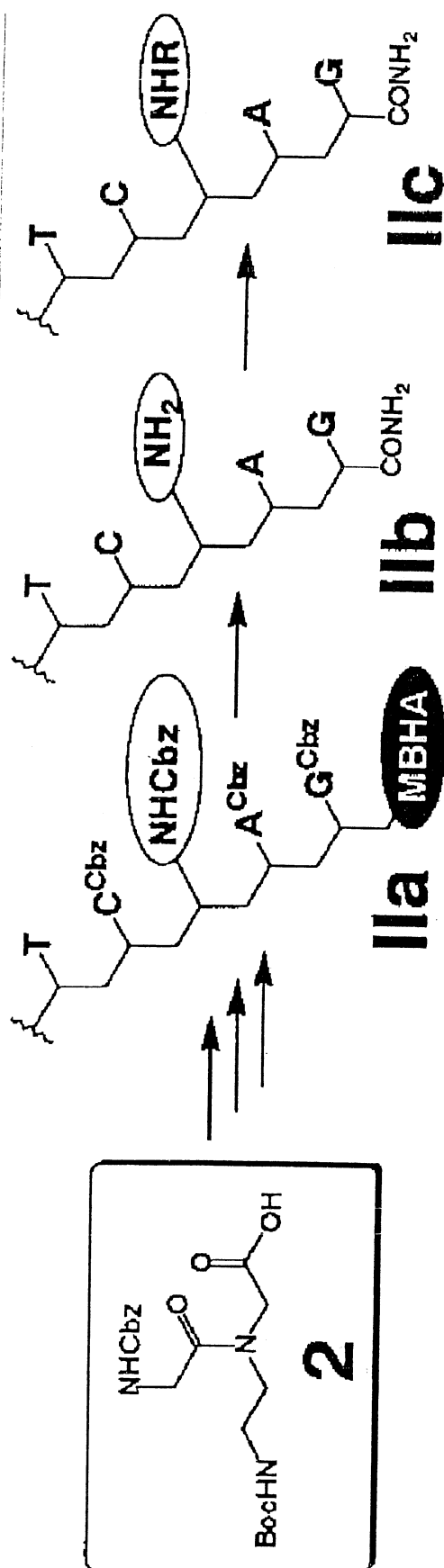
c) Y_1 、 Y_2 及 Y_4 為 0 或 1， $Y_3=0$ 之化合物，且為合成較容易且有用性高者。

式(II)之化合物作為基因診斷藥及反義分子等之機能性素材使用上是有用的。又，因 PNA 如前所述其酵素耐受性高，故作為屬於反義之 1 種的干擾 RNA (RNAi) 替代物 (PNAi) 亦為有用的。特別是，在 R 及 R^1 中至少 1 個為機能性羧酸衍生物化合物之使用上為有用的。又， R 及 R^1 中至少 1 個為光放出性分子，且 R 及 R^1 中至少 1 個為光消失性分子的化合物作為分子標記是有用的。

再者，式(II)中 R^1 為羥基之化合物因容易進行晶片化，故為有用的。

此處，對本發明方法之特徵更詳細說明。

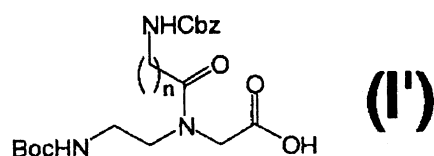
本發明之方法典型為下圖所示者(第 II 法)。



依需要，將由 Cbz- ω -胺基酸與五氟代苯酚(PfpOH)反應得到之 Cbz- ω -胺基酸五氟代苯基酯(Cbz- ω -胺基酸-OPfp)、與 $^{Boc}PNA-OH$ 預先合成 Cbz- ω -胺基酸- $^{Boc}PNA-OH$ 。

要得到後來製程中使用的該 Cbz- ω -胺基酸-OPfp 溶液，可使用 DMF 等有機溶劑或包括丙酮等及水之水溶性溶劑任一者。使用前述水溶性溶劑在純化等後處理方面具有好處。

Cbz- ω -胺基酸- $^{Boc}PNA-OH$ 之例有下述通式(I')所示之化合物。



Cbz- ω -胺基酸- $^{Boc}PNA-OH$ 及後述 Fmoc- ω -胺基酸- $^{Boc}PNA-OH$ 係作為 PNA 單體單元之前驅物，故任一者皆可稱為前驅物 PNA 單體單元。

式(I')中，可適當選擇 1~15 之整數作為為 n，n 之值較大時能減少形成雜交物時之立體排斥(或障礙)故較佳。

其次，使用前驅物 PNA 單體單元、即前述 Cbz- ω -胺基酸- $^{Boc}PNA-OH$ 以合成寡聚物 IIa。具體而言，將具有胸腺嘧啶或以 Cbz 基(N-苄氧基羰基)等保護之腺嘌呤、鳥嘌呤或胞嘧啶的 PNA 單體單元、與前驅物 PNA 單體單元之 Cbz- ω -胺基酸- $^{Boc}PNA-OH$ 反應，再使用 tBoc 法用固相載體使

PNA 鏈逐次縮合、延長。

PNA 鏈之縮合需事先使 tBoc 基脫離，但不限制方法，可使用一般的方法。且後續縮合可使用 HATU、HBTU 及 BOP 等一般性縮合劑。

又，關於固相載體雖只要是 tBoc 法用則不特別限制，但特別以 MBHA 為較適使用的。

其次，將化合物 IIa 由載體樹脂上切離，並將 Cbz 基脫保護成為胺基，以得到化合物 IIb。

切離及脫保護可同時進行。此情形下，對切離及脫保護的條件沒有特別限制。例如，可在 TFA/TFMSA/對甲酚/茴香硫醚=60/25/10/10 之一般條件進行。

接著，在前述 IIb 之前述胺基上，進行具有羧酸基機能性分子活性酯之脫水縮合以得到 IIc。活性酯可使用市售琥珀鹽亞胺酯或五氟代苯基酯。

前述羧酸不特別限定，但由反應性的觀點上，脂肪族羧酸較芳香族羧酸為佳，故使用脂肪族羧酸製造的效率較好。

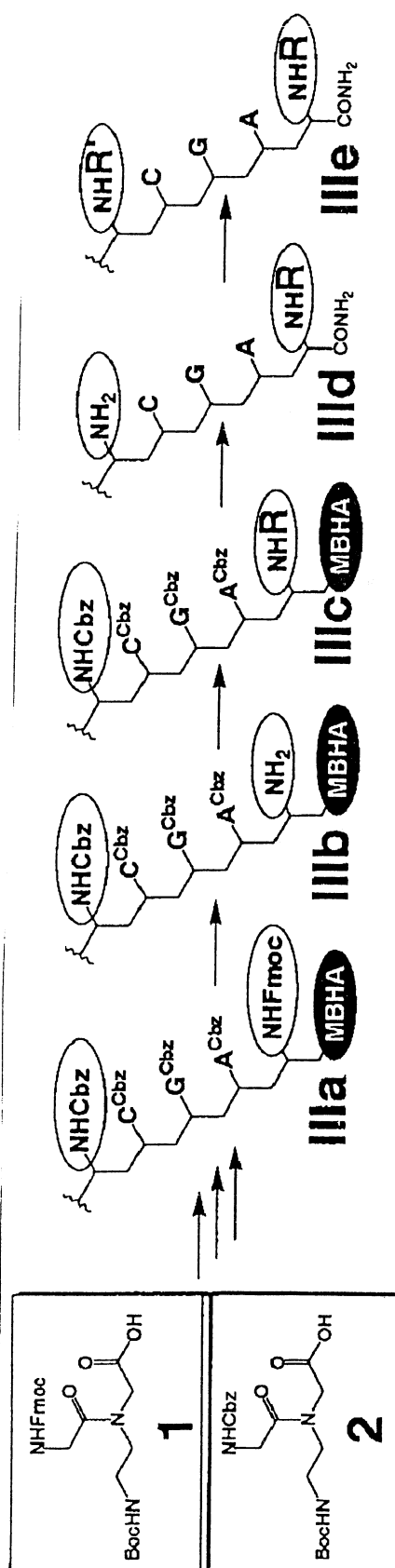
最後，藉由進行各鹼基之保護基、即 Cbz 基之脫保護，可得到目的物之以 R 為機能性分子的機能性 PNA 寡聚物 IId。

如上述，本發明方法與習知機能性單體合成時所用之需活性酯化之合成方法不同，可直接使用機能性分子。且一旦合成 IIa 後，可導入包括自固相切離時不具耐受性者在內的各種機能性分子，故先前導入困難的機能性分子也

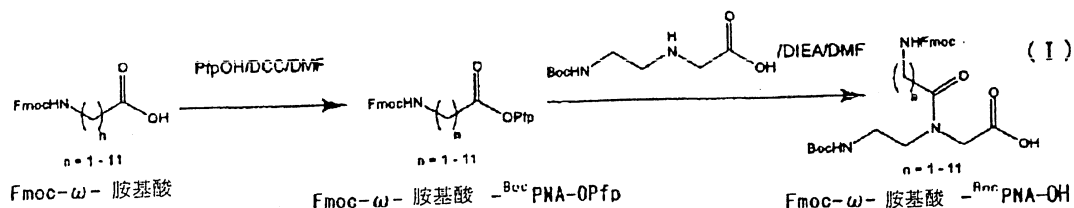
可有效被導入 PNA 探針中。

再者，利用本發明方法中以下另外之前驅物 PNA 單體單元，先前難作之高速且多種並列 PNA 探針可一併合成。

又，使用 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 時，本發明合成寡聚物 PNA 之路徑典型為下圖所示(第 III 法)。



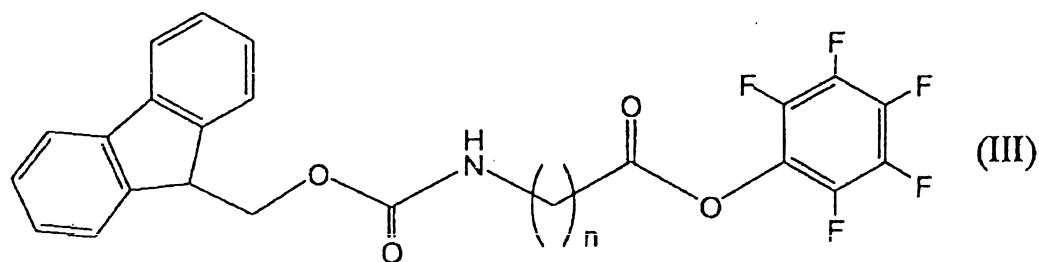
首先，依需要，如下圖所示



將由 Fmoc-ω-胺基酸與五氟代苯酚(PfpOH)反應得到之 Fmoc-ω-胺基酸五氟代苯基酯(Fmoc-ω-胺基酸-OPfp)、與 ^{Boc}PNA-OH 預先合成 Fmoc-ω-胺基酸-^{Boc}PNA-OH。

要得到後來製程中使用的 Fmoc-ω-胺基酸-OPfp 溶液，可使用 DMF 等有機溶劑或丙酮等及水之水溶性溶劑任一者。使用前述水溶性溶劑在純化等後處理方面具有好處。

關於前述 Fmoc-ω-胺基酸-OPfp，藉由將 Fmoc-ω-胺基酸與 PfpOH 在 DMF 溶液中加入 DCC 使其反應，可得到如下式之化合物。



(式中，n 表示 1~15 之整數)

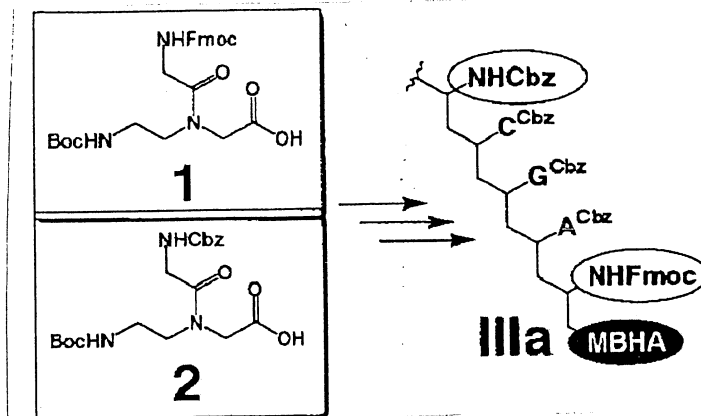
接著，在 ^{Boc}PNA-OH 之 DMF 溶液內將其與二異丙基乙基胺一起加入，可得到 Fmoc-ω-胺基酸-^{Boc}PNA-OH。

Fmoc-ω-胺基酸-^{Boc}PNA-OH 因具有 PNA 單體單元之前驅物的機能，與 Cbz-ω-胺基酸-^{Boc}PNA-OH 同樣可稱為前

驅物 PNA 單體單元。

式(I)中可適當選擇 1~15 之整數為 n ， n 之值愈大因能減少形成雜交物時之立體排斥(或障礙)，故較佳。

其次，如下圖所示，

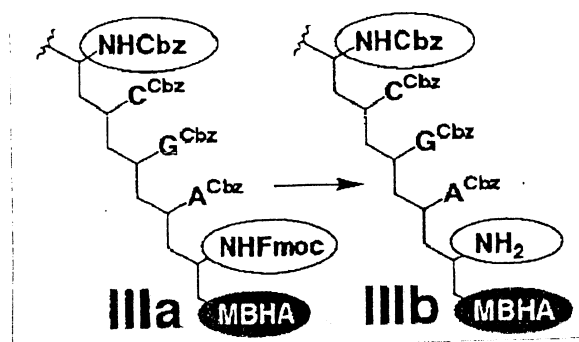


使用前驅物 PNA 單體單元合成寡聚物 IIIa。具體而言，將具有胸腺嘧啶或以 Cbz 基(N-苄氧基羰基)等保護之腺嘌呤、鳥嘌呤或胞嘧啶的 PNA 單體單元、與前驅物 PNA 單體單元之 Cbz- ω -胺基酸- ^{Boc} PNA-OH 反應，再使用 tBoc 法用固相載體使 PNA 鏈逐次縮合並延長。又，前驅物 PNA 單體單元之導入順序不限制。

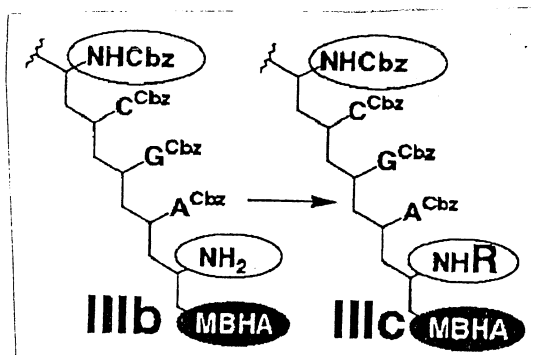
PNA 鏈之縮合雖預先需使 tBoc 基脫離，但方法並不限制，可使用一般的方法。後續縮合則可使用 HABU、HBTU 及 BOP 等一般縮合劑。

又，關於固相載體只要是使用 tBoc 法用者則不特別限制，但特別以 MBHA 為較適可使用者。

其次，如下圖所示，



以吡啶處理將 Fmoc 基進行選擇性脫保護成胺基，以得到 IIIb，再依下圖所示



在該 IIIb 之前述胺基上進行具羧酸基之機能性分子的活性酯脫水縮合，以得到 IIIc。

前述羧酸不特別限制，但從反應性的觀點上脂肪族羧酸較芳香族羧酸佳，故使用脂肪族羧酸製造之效率較佳。

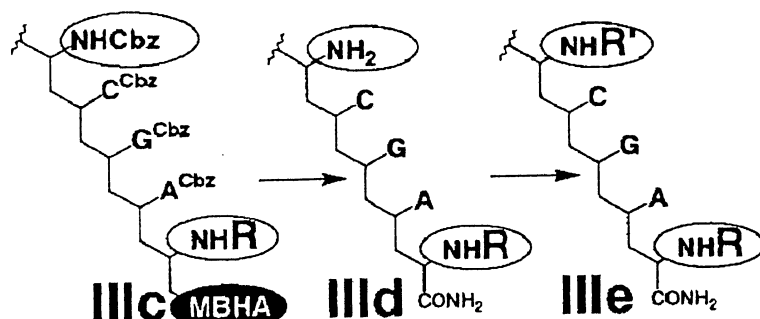
又，以吡啶處理進行 Fmoc 基之脫保護較佳為花相當程度的時間進行。特別，以 20~40 分鐘較適，最佳者為 30 分鐘。

縮合劑之種類不特別限制，與前述 PNA 鏈縮合同樣，可使用 HATU、HBTU 及 BOP 等一般縮合劑。

又，機能性分子之導入在 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 縮合後直接進行亦可(第 1 法)，或者將包括 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 在內之全部 PNA 單體單元逐次縮合後再進

行亦可(第2法)。

其次，依下圖所示，

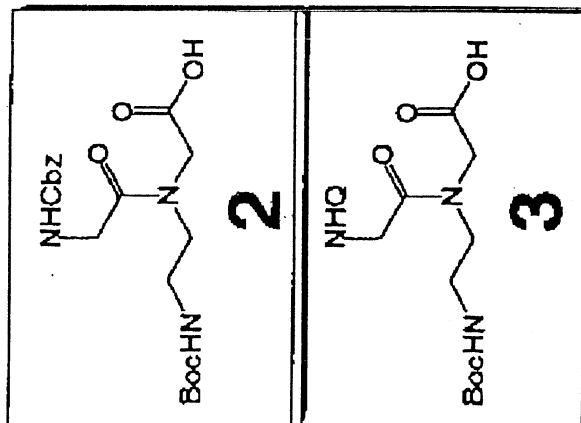


藉由進行自載體樹脂切離及 Cbz 基之脫保護，經由具有 R 及 R' 機能性分子基之具機能性分子化合物 **IIIc**，以得到目的物 **IIIe**。

切離和脫保護亦可同時進行。此情形下，只要是在 Fmoc 基脫保護後進行則不特別限制條件。例如，可在如 TFA/TFMSA/對甲酚/茴香硫醚=60/25/10/10 之一般條件下進行。

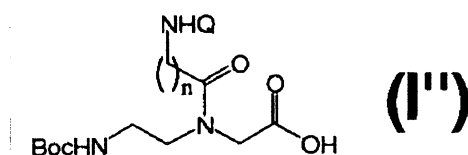
其次，本發明製造方法中，除藉由將上述 Fmoc 基以機能性分子取代以導入機能性分子以外，亦可將 PNA 骨架構造之一部分以具有機能性分子之 PNA 單體、即另外不同的前驅物 PNA 單體單元來構建，再以預合成方式導入機能性分子(第 V 法)。

此情形典型之合成途徑如以下所示：



即，與前述使用 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 之方法比較，不經過與 IIIa 及 IIIb 相當之化合物，而能製造機能性 PNA 寡聚物。又，導入各 PNA 單體單元的順序不限定。

具有機能性分子之 PNA 單體可利用例如(液相法)製造。該 PNA 單體可以式(I''):



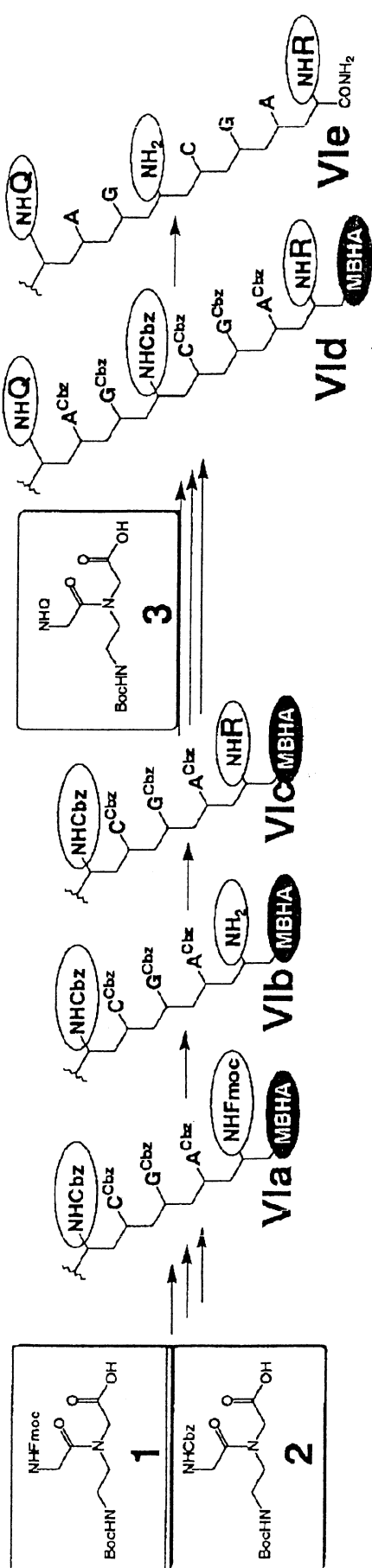
(式中，Q 表示機能性分子，n 表示 1~15 的整數)

所示的化合物為例。

又，欲得到式 Va 的化合物，可使用習知的固相法。之後利用與使用前述 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 時同樣的製程，可得到目的物 Vc。

再者，如下圖所示，使用式(I)化合物、式(I')化合物及式(I'')化合物，可以合成機能性 PNA 寡聚物(第 VI 法)

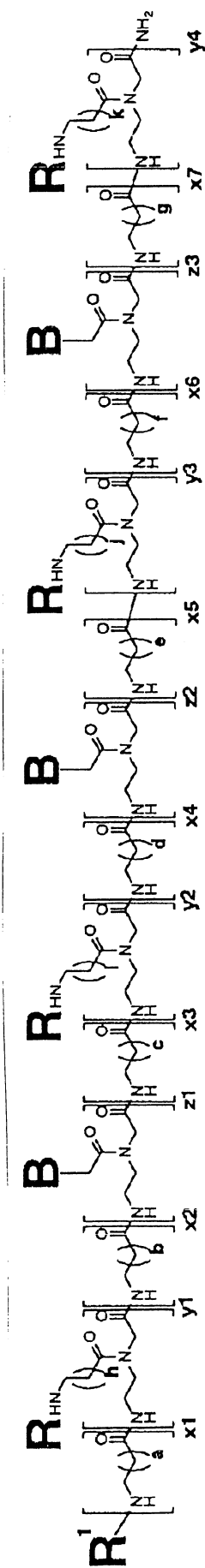
。



此情形亦不限定各 PNA 單體單元之導入順序。

又，僅使用前述 Fmoc- ω -胺基酸-BocPNA-OH 之方法（第 I 法）、及使用前述 Fmoc- ω -胺基酸-BocPNA-OH 與前述 Q- ω -胺基酸-BocPNA-OH 之方法（第 IV 法），已提出專利之申請（日本特願 2002-121667）。

依本發明之方法可合成下述通式(II)



(I I)

(式中，B 彼此獨立，為相同或相異，代表腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶，R 彼此獨立，為相同或相異，代表 Fmoc 基、機能性羧酸衍生物或氫原子， R^1 為氫原子、羥基或機能性羧酸衍生物， $a \sim k$ 為 0~10 之整數， $X_1 \sim X_7$ 、 $Y_1 \sim Y_4$ 及 $Z_1 \sim Z_3$ 皆為 0 以上之整數， $X_1 + X_2 + X_3 + X_4 + X_5 + X_6 + X_7 > 0$ ， $Y_1 + Y_2 + Y_3 + Y_4 > 0$ ， $Z_1 + Z_2 + Z_3 > 0$ ， $X_6 + Z_3 + X_7 + Y_4 \neq 0$ 且 R^1 為羥基時，鍵結於 R^1 之 $-NH$ 為 $-CO-$ 。)所示之化合物等。

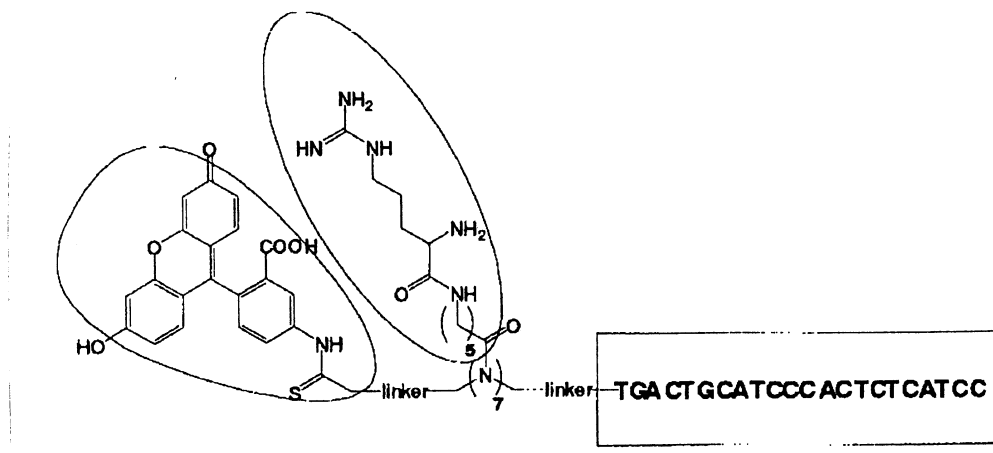
依本發明之方法，可適當合成式(II)所示之化合物，例如 R 及 R^1 中至少 1 個為光機能性分子且 R 及 R^1 中至少 1 個為光消失性分子之化合物，及 R^1 為羥基之化合物，或 R^1 為機能性羧酸衍生物，特別是 R^1 為光機能性羧酸衍生物之化合物。

又， R^1 中 a 為 0~3 整數， b 為 0~5 整數， h 、 l 及 k 中至少之 1 為 4 的化合物， Y_1 、 Y_2 及 Y_4 為 0 或 1， $Y_3=0$ 等化合物。

又，通式(II)所示的化合物中至少之一的 R 基為 Fmoc 基的化合物，亦為可依上述製造方法合成之機能性 PNA 寡聚物之前驅化合物。

又，關於前述通式(II)所示化合物中導入複數機能性分子者，例如可合成 R 或 R^1 為細胞膜透過性機能性分子衍生物者。此種化合物典型上 R 為細胞膜透過性機能性分子衍生物，且 R^1 為光機能性分子等機能性羧酸衍生物等者，亦即將機能性分子導入於包括末端部在內的複數部位、藉此以賦予複數機能之化合物。此種化合物可依下述加以模

式化。



此種化合物例如為在前述通式(II)中， $X_1=X_2=Y_1=1$ 且 $Z_1 \geq 2$ 之化合物。此種化合物在合成簡單及合成成本方面較佳。

藉由導入連接部位，可預防各機能性部位及鹼基序列辨識區之間的干擾，使分子機能更加確實發揮。本說明書中 PNA、PNA 單體及 PNA 寡聚物之用語係包含在末端及/或內部具備連接部位者在內。

用以預防該等部位或區域之間彼此干擾的部位，不僅限於前述連接部位，亦可依所需在通式(II)之 f~h 中選擇。

構成連接部位的基團，例如有直鏈狀或支鏈狀的烴及該等之酯類等，但以直鏈狀烴基在導入容易度及成本方面較適，特別以碳數 1~6 之直鏈狀烴基為適當的。又，酯類以其汎用性上為較佳的。

導入前述複數機能性分子之化合物可利用例如 Koch,

T.; Hansen, H. F.; Andersen, P., Larsen, T.; Batz, h. G.; Otteson, K.; Orum, H. J. Peptide Res. 1997, 49, 80-88 來合成。

鹼基序列辨識部位，可用市售各種 PNA 單體以固相合成進行寡聚物化。連接部位可使用市售 Boc-7-胺基庚酸、Boc-6-胺基己酸等。

若導入光機能性分子來作為 1 個機能性分子，則可進行螢光標記，且可合成具有其他機能之化合物。關於該等螢光標記部位，可使用市售 FITC、FAM、ROX、TAMRA 或芘等市售活性酯型螢光標記化合物，並選擇各種螢光發光波長，可導入之螢光標記化合物並不限定於此等。

可導入本發明化合物之其他機能性例，例如有膜透過性機能。該種膜透過性機能部位，同樣可利用前述通式(I)所示之化合物進行導入。可提高膜透過性之機能性分子例如有精胺酸，但亦可使用離胺酸及絲胺酸等其他水溶性胺基酸。

又，藉由使用 Cbz 胺基酸單元及 Fmoc 胺基酸單元及/或具有機能性分子之胺基酸單元，可導入複數個胺基酸。但上述二種化合物僅為本發明具有膜透過性機能之螢光 PNA 探針的模式化合物，本發明並不限定於該等。

該等探針的特徵為「完全 PNA 型，故具有完全的酵素耐受性」。即，目前具有膜透過性機能之探針以 PNA 與具有膜透過性機能之肽鏈或磷脂質共價鍵結者為主流，但該等已知的探針雖具有良好的膜透過性，但推測若進入細胞

肽鏈或磷脂質會被酵素群分解。因此，未辨識目標物而分解之探針在洗淨過程中會有無法完全除去的缺點。

相對於此，此次設計之探針因在細胞內也不會被酵素分解，故未辨識目標物之探針在洗淨過程中可以完全除去，可正確進行基因表現量之定量。

又，除具有該等機能性之化合物以外，依本發明可導入乳糖等臟器選擇性機能性分子、昆蟲抗真菌肽或天蠶素等殺菌性機能性分子及巴拉刈等分子辨識性機能性分子等；這些化合物能大量且低成本地供實際使用。

再者，本發明之探針亦包括兼具有光放出性分子及光消失性分子的分子標記。分子標記係指，藉發螢光來特異性辨識鹼基序列之檢測探針，在基因工程上為重要化合物。

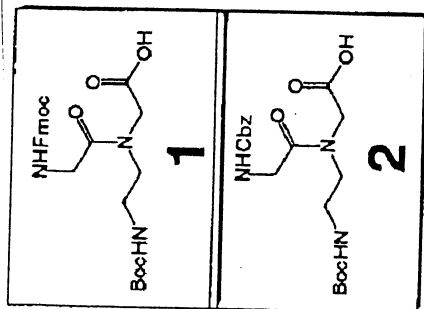
先前之分子標記因係使用 DNA，酵素耐受性低且不適於保存，但本發明之探針係使用 PNA 骨架故安定性較高。

前述光放出性分子例如有 FITC、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明、TAMRA、ROX、芘及香豆素等，光消失性分子例如有 Dabcyl、HABA、NDI 及偶氮等。

【實施方式】

以下以實施例更詳細說明本發明，但本發明之範圍不限定於此。

(實施例 1)關於第 III 法例(1)



(1) 將前驅物 PNA 單體單元導入固相載體

首先，在固相載體 MBHA(50mg) 上以 Cbz-C4-BocPNA-OH(9.0mg、20mmol)、縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol) 與 DIEA(7.0ml、20mmol) 進行延長反應。

(2) PNA 寡聚物之延長反應

接著，用鳥嘌呤 PNA 單體單元(10.8mg、20mmol)、縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol) 及 DIEA(7.0ml、20mmol) 進行逐次延長反應。

對其他的 PNA 單體單元亦同樣進行縮合，進行延長反應。

(3) 前驅物 PNA 單體單元之導入

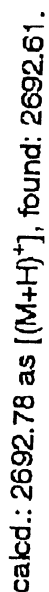
接著，使用 Fmoc-C5-BocPNA-OH(22.2mg、20mmol)、縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol) 與 DIEA(7.0ml、20mmol) 進行縮合反應。

(4) 機能性分子固相合成時後合成之導入

將全部單元進行逐次縮合後，以哌啶處理(20% 哌啶於 DMF，室溫 3 分)將 Fmoc 基脫保護。再以 FITC(15.6mg、40mmol) 作為機能性羧酸衍生物以 TEA(5.6ml、40mmol) 進行縮合，並以後合成方式導入機能性分子。

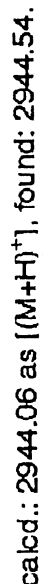
(5) 自固相載體切離

以切離試藥 (TFA/TFMSA/ 對甲酚 / 茴香硫醚 = 60/25/10/10) 同時進行由固相載體切離及 Cbz 基之脫保護，再進行後處理以得到下述化合物。



(6)自固相載體切離後將機能性分子後合成導入

於純化後上述化合物上，使用 Dabcy1-0su(14.6mg、40mmol)作為機能性羧酸衍生物並使用 TEA(13.9ml、40mmol)縮合，以後合成導入機能性分子。反應後，以 HPLC 純化，以得到目的之下述化合物。



(實施例 2)關於第 III 法例(2)

(1)將前驅物 PNA 單體單元導入固相載體

首先，在固相載體 MBHA(50mg)上將 Fmoc-C5-BocPNA-OH(22.2mg、20mmol)使用縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol)與 DIEA(7.0ml、20mmol)進行縮合反應。利用茚三酮反應檢查縮合反應是否定量的進行。

(2) PNA 寡聚物之延長反應

接著，用鳥嘌呤 PNA 單體單元(10.8mg、20mmol)、縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol)及 DIEA(7.0ml、20mmol)進行逐次延長反應。

對其他的 PNA 單體單元亦同樣進行縮合，進行延長反應。

(3)前驅物 PNA 單體單元之導入

接著，使用 Cbz-C5-BocPNA-OH(9.0mg、20mmol)、縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol)與 DIEA(7.0ml、20mmol)進行延長反應。此製程重覆 2 次。

(4)機能性分子固相合成時後合成之導入

將全部單元進行逐次縮合後，以哌啶處理(20% 哌啶於 DMF，室溫 3 分)將 Fmoc 基脫保護。再以 FAM-Osu(15.6mg、40mmol)作為機能性羧酸衍生物並使用 TEA(5.6ml、40mmol)進行縮合，以後合成方式導入機能性分子。

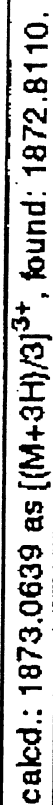
(5)自固相載體切離

以切離試藥(TFA/TFMSA/對甲酚/茴香硫醚

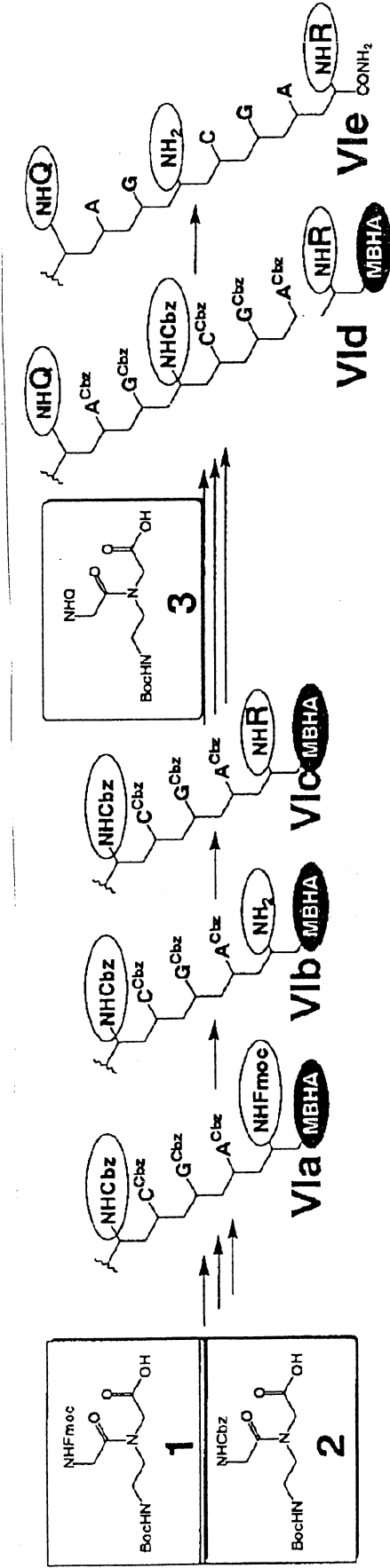
=60/25/10/10)同時進行由固相載體切離及 Cbz 基之脫保護，進行後處理得到導入機能性分子前之化合物。

(6)自固相載體切離後之機能性分子後合成導入

使用 Dabcy1-Osu(14.6mg、40mmol)作為機能性羧酸衍生物並使用 TEA(13.9ml、40mmol)縮合，以後合成導入機能性分子。反應後，以 HPLC 進行純化，以得到目的之下述化合物。



(實施例 3)關於第 VI 法之例



(1) 前驅物 PNA 單體單元導入固相載體

首先，在固相載體 MBHA(50mg)上將 Fmoc-C5-BocPNA-OH(22.2mg、20mmol)使用縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol)與 DIEA(7.0ml、20mmol)進行縮合反應。利用茚三酮反應檢查縮合反應是否定量的進行。

(2) PNA 寡聚物之延長反應

接著，用胸腺嘧啶 PNA 單體單元(7.7mg、20mmol)、Cbz-Gly-BocPNA-OH(8.2mg、20mmol)或胞嘧啶 PNA 單體單元(10.1mg、20mmol)，以縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol)及 DIEA(7.0ml、20mmol)進行逐次縮合，以進行 PNA 寡聚物之延長反應。

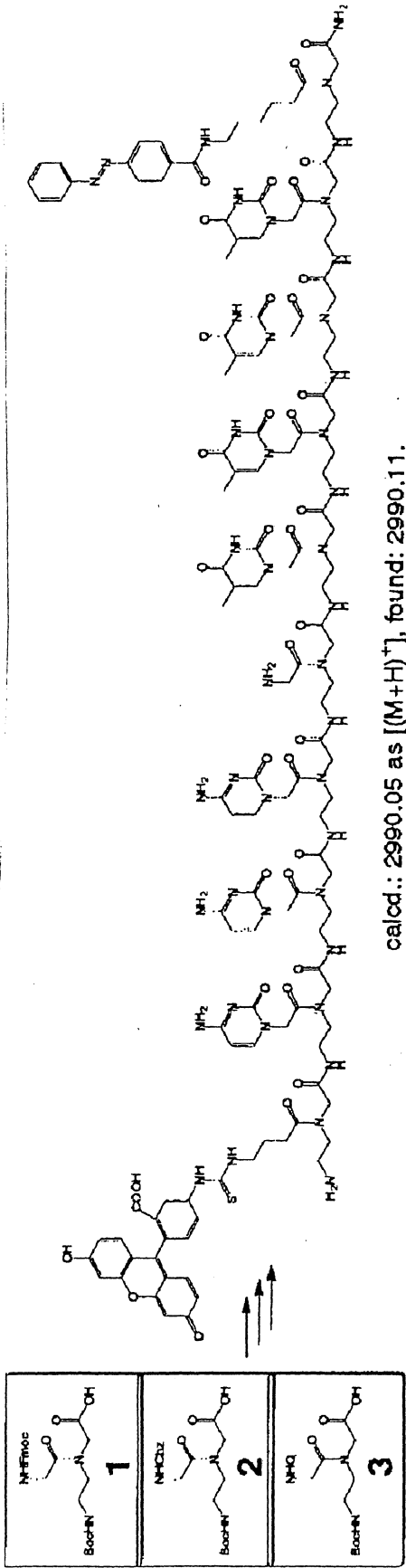
(3) 機能性分子固相合成時後合成之導入

以哌啶處理(20% 哌啶於 DMF，室溫 3 分)將 Fmoc 基脫保護。再以偶氮-Osu(13.8mg、40mmol)作為機能性羧酸衍生物並使用 TEA(13.9ml、40mmol)進行縮合，以後合成方式導入機能性分子。

(PNA 寡聚物之延長反應)再將螢光素-C3-BocPNA-OH(13.9mg、20mmol)以縮合劑 HBTU(7.6mg、20mmol)及 DIEA(7.0ml、20mmol)再次縮合，以進行 PNA 寡聚物之延長反應。

(4) 自固相載體切離

以切離試藥(TFA/TFMSA/對甲酚/茴香硫醚=60/25/10/10)同時進行由固相載體切離及 Cbz 基之脫保護，以進行後處理得到下述化合物。



依本發明，可將各種各樣的機能性分子容易的導入 PNA 中而不限定於光機能性分子，且可將多種多樣機能性分子容易且有效導入 PNA 中以供構建基因治療等使用之各種 PNA。

【圖式簡單說明】

(一) 圖式部分

圖 1 為表示 DNA 及 PNA 構造與帶電狀況差異之圖。

圖 2 為表示 2 種 PNA 單體單元構造之圖。

(二) 元件代表符號

(無)

伍、中文發明摘要：

提供機能性 PNA 寡聚物之製造方法，係包括以下製程：在具有胸腺嘧啶、或被保護基保護之腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、或 Cbz 基之 PNA 寡聚物中，將該保護基或 Cbz 基，在 PNA 寡聚物由載體樹脂切離後以機能性分子取代，並進行前述保護基之脫保護；並提供以該方法製造之機能性 PNA 寡聚物。並提供成本效益良好、且可以超高速導入各種機能性分子之機能性 PNA 之新穎合成方法及其所使用的化合物，與新穎之機能性 PNA。

陸、英文發明摘要：

拾、申請專利範圍：

1. 一種機能性 PNA 寡聚物之製造方法，係用來製造機能性 PNA 寡聚物；包括以下製程：在具有胸腺嘧啶或被保護基保護之腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、或 Cbz 基之 PNA 寡聚物中，將該保護基或 Cbz 基，在 PNA 寡聚物由載體樹脂切離後以機能性分子取代，並進行該保護基之脫保護，以使 PNA 寡聚物具有機能性分子。

2. 如申請專利範圍第 1 項之方法，係包括以下製程：使 $\text{Fmoc}-\omega\text{-胺基酸}-^{\text{Boc}}\text{PNA}-\text{OH}$ 與 $\text{Cbz}-\omega\text{-胺基酸}-^{\text{Boc}}\text{PNA}-\text{OH}$ 反應後，將 Fmoc 基以機能性分子取代，以得到具機能性分子之 PNA 寡聚物。

3. 如申請專利範圍第 1 項之方法，係包括以下製程：將 $\text{Q}-\omega\text{-胺基酸}-^{\text{Boc}}\text{PNA}-\text{OH}$ (Q 表示機能性分子) 導入 PNA 寡聚物，以得到具機能性分子之 PNA 寡聚物。

4. 如申請專利範圍第 2 項或第 3 項之方法，其中之 $\text{Cbz}-\omega\text{-胺基酸}-^{\text{Boc}}\text{PNA}-\text{OH}$ ，係使 $\text{Cbz}-\omega\text{-胺基酸}$ 五氟代苯基酯與 $^{\text{Boc}}\text{PNA}-\text{OH}$ 反應而製造出。

5. 如申請專利範圍第 4 項之方法，其中之 $\text{Cbz}-\omega\text{-胺基酸}$ 五氟代苯基酯，係使 $\text{Cbz}-\omega\text{-胺基酸}$ 與五氟代苯酚反應而製造出。

6. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中之機能性分子，係擇自光放出性分子、光消失性分子、膜透過性機能性分子、臟器選擇性機能性分子、殺菌性機能性分子、分子辨識性機能性分子、光交聯機能性分子、光增

感機能性分子、DNA 鍵結性分子及 DNA 切斷機能性分子所構成群中之 1 種或 2 種以上。

7. 如申請專利範圍第 6 項之方法，其中之機能性分子包括光放出性分子及光消失性分子，光放出性分子為 FITC、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明、TAMRA、ROX、芘、香豆素，光消失性分子為 Dabcyl、HABA、NDI、偶氮。

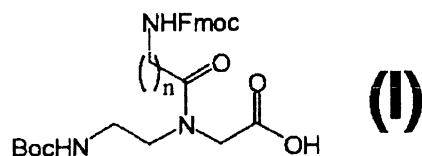
8. 如申請專利範圍第 6 項之方法，其中之機能性分子包括光放出性分子及膜透過性機能性分子，光放出性分子為 FITC、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明、TAMRA、ROX、芘、香豆素，膜透過性機能性分子為水溶性胺基酸。

9. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中之 PNA 寡聚物之合成，係包括使用 tBoc 法用固相載體將 PNA 鏈縮合與延長。

10. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中將 Cbz 基以機能性分子取代，係使用與縮合劑 HATU、HBTU、DCC、或機能性分子之五氟代苯基酯衍生物、N-羥基琥珀醯亞胺酯衍生物之縮合來進行。

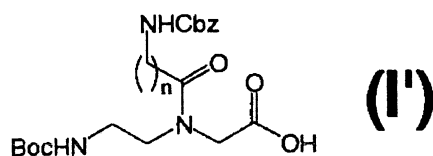
11. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中將 Fmoc 基以機能性分子取代，係與將 Fmoc 基用哌啶處理以進行選擇性脫保護而得之 1 級胺基間之脫水縮合來進行。

12. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中 Fmoc- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 係通式(I)



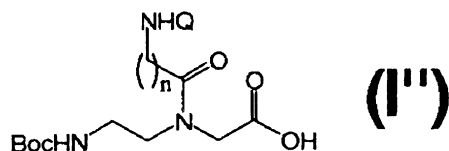
(式中，n 表示 1~15 之整數) 所示之化合物。

13. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中 Cbz- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 係通式(I')



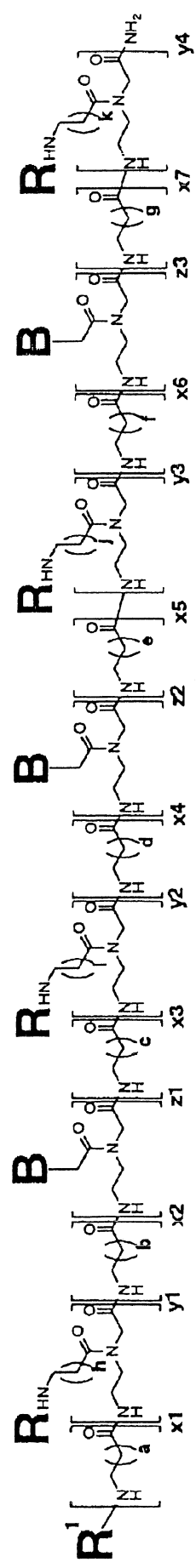
(式中，n 表示 1~15 之整數)所示之化合物。

14. 如申請專利範圍第 1~3 項中任一項之方法，其中 Q- ω -胺基酸-^{Boc}PNA-OH 係通式(I'')



(式中，Q 表示機能性分子，n 表示 1~15 之整數)所示之化合物。

15. 一種以通式(II)表示之化合物，



(I I)

(式中，B 彼此獨立，為相同或相異，代表腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶或胸腺嘧啶；R 彼此獨立，為相同或相異，代表 Fmoc 基、機能性羧酸衍生物或氫原子； R^1 為氫原子、羥基或機能性羧酸衍生物， $a\sim k$ 為 $0\sim 10$ 之整數， $X_1\sim X_7$ 、 $Y_1\sim Y_4$ 及 $Z_1\sim Z_3$ 皆為 0 以上之整數， $X_1+X_2+X_3+X_4+X_5+X_6+X_7>0$ ， $Y_1+Y_2+Y_3+Y_4>0$ ， $Z_1+Z_2+Z_3>0$ ， $X_6+Z_3+X_7+Y_4\neq 0$ ，且 R^1 為羥基時，鍵結於 R^1 之 $-NH$ 為 $-CO-$)。

16. 如申請專利範圍第 15 項之化合物，其中之機能性分子，係擇自光放出性分子、光消失性分子、膜透過性機能分子、臟器選擇性機能分子、殺菌性機能性分子、分子辨識性機能性分子、光交聯機能性分子、光增感機能性分子、DNA 鍵結性分子及 DNA 切斷機能性分子所構成群中之 1 種或 2 種以上。

17. 如申請專利範圍第 16 項之化合物，其中之機能性分子包括光放出性分子及光消失性分子，光放出性分子為 FITC、蔡醯亞胺、黃素、FAM、若丹明、TAMRA、ROX、芘、香豆素，光消失性分子為 Dabcyl、HABA、NDI 或偶氮。

18. 如申請專利範圍第 15~17 項中任一項之化合物，其中之機能性分子包括光放出性分子及膜透過性機能性分子，且 R^1 為羥基。

19. 如申請專利範圍第 15~17 項中任一項之化合物，其中 R 及 R^1 至少之一為機能性羧酸衍生物。

圖 1

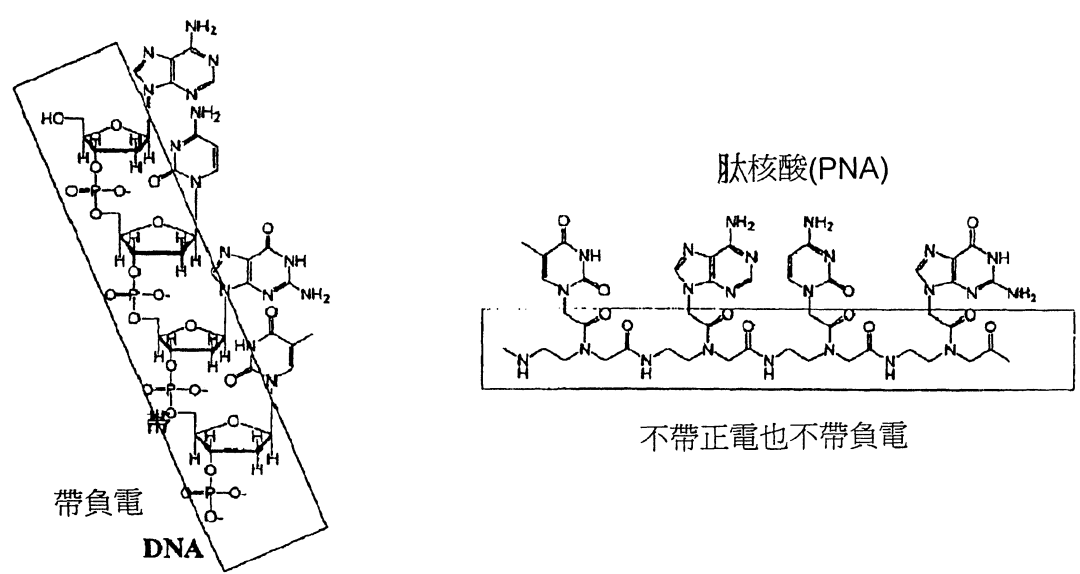
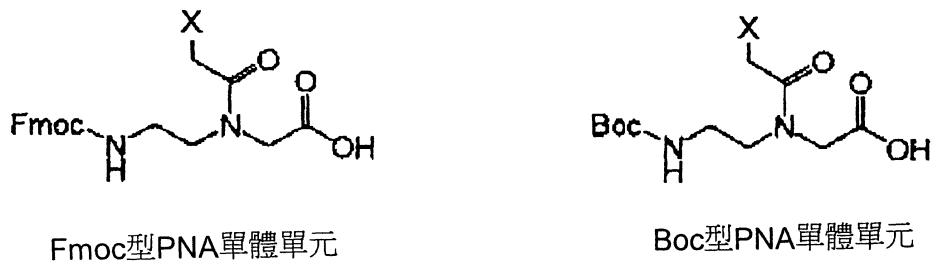


圖 2



柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (2) 圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

(無)

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

式 (I)

